Tome 61, nº 10. — Mai 1954.

Zoologische Anstalt der Universität Basel

Beitrag zur Entwicklung und Metamorphose des Darmes bei *Xenopus laevis* Daud.

von

GEIGY, R. und **ENGELMANN, F.**

Einleitung.

Der südafrikanische Krallenfrosch *Xenopus laevis*, dessen Züchtung und Entwicklung zum Adultfrosch erstmals von P. Gasche (1943 und 1944) geschildert worden ist, hat sich seit einigen Jahren als ein äusserst günstiges Laboratoriumstier eingebürgert. Relativ einfach erreicht man durch Einspritzen von gonadotropem Hormon bei männlichen und weiblichen Tieren die Ablage und Befruchtung der Eier (P. Gasche 1942). Die Larven werden bis zum Metamorphosebeginn mit einer Aufschwemmung von Brennesselpulver ernährt, eine Aufzuchtmethode, die 1948 von W. Ochsé beschrieben worden ist. Der genannte Autor vermittelt auch Angaben über den äusseren Aspekt der verschiedenen Entwicklungsstadien bis zum Abschluss der Metamorphose.

Eine spezielle Beschreibung der Darmmetamorphose gibt Kremer 1927. Er untersuchte rein histologisch ihren Ablauf bei *Rana temporaria*, *R. esculenta* und *Alytes obstetricans* und gibt ein ausführliches Literaturverzeichnis zum Thema.

Schliesslich wäre in diesem Zusammenhang E. Babák 1906 zu nennen, der über Fütterungsversuche an Larven von *Rana fusca*, *R. arvalis*, *R. esculenta* und *Pelobates fuscus* mit pflanzlichen Stoffen bzw. mit frischem Fleisch berichtet. Durch die verschiedene Nahrung erzielte er ganz unterschiedliche Darmlängen bei den Larven und zwar stets höhere Masse nach vegetarischer Fütterung.

Die eigenen Versuche beziehen sich vor allem auf die Entwicklung und Metamorphose des Darmtraktus bei *Xenopus laevis*. Die morphologischen Beobachtungen wurden histologisch ergänzt und bestätigten in dieser Hinsicht im wesentlichen die Ergebnisse von KREMER. Ferner wurde noch der Einfluss verschiedener Ernährung auf den Darm geprüft, indem Aufschwemmungen von Brennessel- bzw. Leberpulver verabfolgt wurden.

Die Darmentwicklung während der larvalen Periode.

Wenn man eine Anurenlarve ventral öffnet, so fällt sofort der einen bedeutenden Raum einnehmende, aufgerollte Darmtraktus auf. Im folgenden soll versucht werden, die Entstehung dieser Darmspirale zu beschreiben. Der Übergang vom anfänglich gestreckten Darmrohr zu den ersten Windungen konnte nicht beobachtet werden. Hingegen gelang es bei einem Tier, das am zweiten Tag nach dem Schlüpfen geöffnet wurde und noch keine Nahrung aufgenommen hatte, eine Darmlage festzustellen, wie sie in Abbildung 1 zu sehen ist. Den Verlauf der einzelnen Windungen versucht das Modell Abbildung 8 klar zu machen. Das Darmrohr kommt gestreckt aus cranialer Richtung, biegt dann nach ventral und wieder nach vorwärts um, wendet sich sodann nach der rechten Körperwand, um in einer flachen U-förmigen Schleife nach links hinüber zu traversieren. Dort erfolgt am mit x bezeichneten Punkt eine Biegung um 180°, indem sich der Darm in einer geschwungenen Linie dorsalwärts wendet, dann wieder nach hinten umknickt und gestreckt zum After führt. Zum Zeitpunkt der oben beschriebenen Situation ist das Darmepithel vielschichtig und enthält sehr viele Dotterschollen, die zum Teil zu Klumpen zusammengeballt sind. Das Epithel wird gegen das Lumen zu von einem Kutikularsaum überzogen, der eben sichtbar wird.

Der Übergang von den ersten Windungen zur Spirale vollzieht sich sehr rasch. In Abbildung 2 ist ein Tier dargestellt, das gleich alt, aber etwas weiter differenziert ist, wie dasjenige in Abbildung 1. Der Punkt x wandert im Gegensinn des Uhrzeigers und dadurch entsteht eine Windung nach der andern. Das histologische Bild zeigt, dass dieser Vorgang der ersten Spiralbildung und damit der Darmverlängerung darauf beruhen muss, dass sich das Epithel

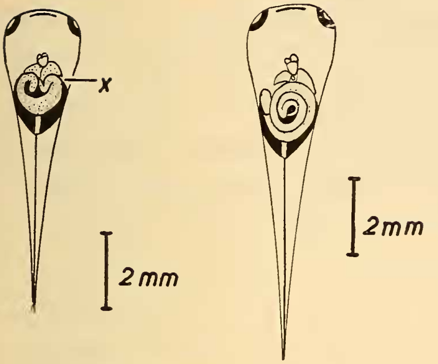


ABB. 1-2.

Abb. 1. Xenopuslarve 2 Tage nach dem Schlüpfen. — Abb. 2. Xenopuslarve 2 Tage nach dem Schlüpfen, aber etwas weiter differenziert.

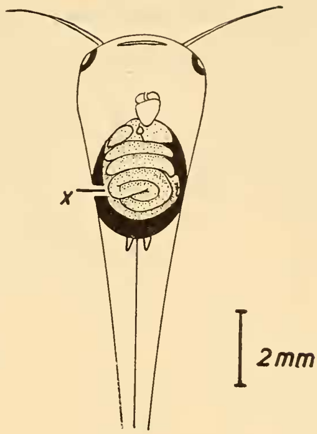


ABB. 3.

Etwa 12 Tage alt. Drehung der ganzen Spirale um 90°.

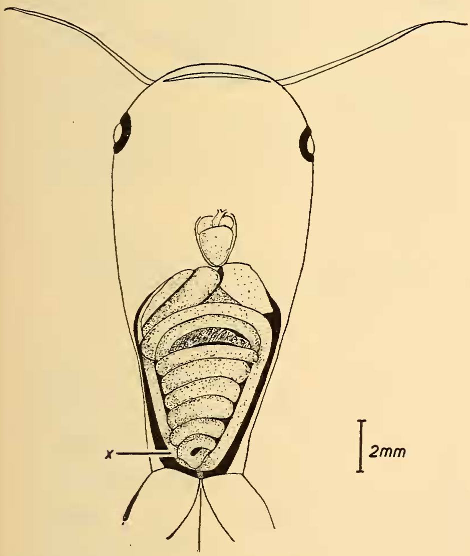


ABB. 4.

Kurz vor Metamorphosebeginn.

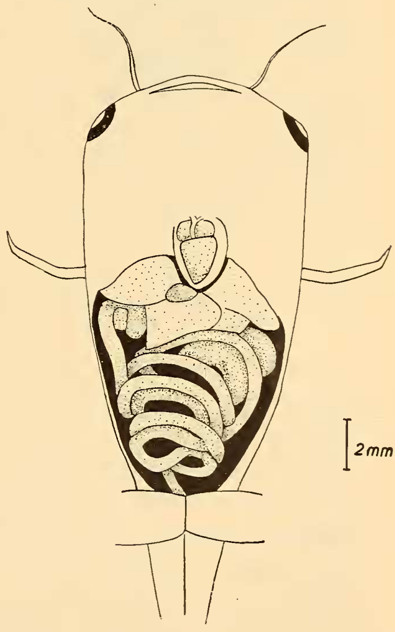


ABB. 5.

Völlige Auflösung der Darmspirale etwa 5 Tage nach Metamorphosebeginn.

zur einschichtigen Lage streckt, bis der Zustand auf Abbildung 10 erreicht ist; dann sind noch einige Dotterschollen zu beobachten, und der Kutikularsaum hat sich zu einem einförmigen Überzug geschlossen. Die weitere Entwicklung geht wie folgt vor sich. Wenn der Punkt x, und damit die Stelle an der sich der Darm in entgegengesetzter Richtung einrollt, ursprünglich ventral gelegen ist, so ändert sich später diese Situation, indem sich die ganze Spirale um 90° caudalwärts abdreht, wie dies die Abbildung 3 und 4, sowie das Modell Abbildung 9 zeigen. Die U-förmige Schleife von Abbildung 1 dehnt sich ebenfalls und legt sich nach dieser Drehung der Spirale äusserlich an. Wie man auch aus den Abbildungen sieht, hat die innere Spirale gegenüber der äusseren entgegengesetzte Drehrichtung. Bis zum Ende der larvalen Periode ändert sich jetzt in deren Lage nichts mehr, lediglich die Zahl der Windungen steigert sich auf 7 oder 8. Auch morphologisch und histologisch lässt sich kaum eine Differenzierung in verschiedene Darmabschnitte erkennen, indem das Darmrohr als einförmiger Schlauch erhalten bleibt. Einzig der Enddarm grenzt sich von der Mitte der Larvenperiode an deutlich ab, zeigt aber histologisch gegenüber dem Dünndarm keine Unterschiede. Kurz vor Beginn der Metamorphose ist eine schwache Anschwellung in der zukünftigen Magengegend zu sehen und zwar in der Schleife am linken vorderen Teil der Spirale. Diese Anschwellung ist auf die Entstehung der Magendrüsen zurückzuführen (Abb. 11).

Die Darmenentwicklung während der Metamorphose.

Als Metamorphosebeginn kann der Zeitpunkt gelten, wo die Vorderbeine der Larve die Operkular-Haut durchstossen. Darauf vollzieht sich die gut 14 Tage dauernde Metamorphosekrise. In den ersten Tagen dieser Periode ändert sich im Froschdarm praktisch nichts. Man beobachtet lediglich eine Verkürzung des gesamten Darmes, was auf eine Entleerung zurückzuführen ist, wie weiter unten noch gezeigt wird. Im weiteren Verlauf der Metamorphose sieht man, wie sich die Darmspirale auflockert und oft ein wirres Knäuel von Windungen bildet. Abbildung 5 zeigt ein Tier, das am 5. Tage nach Metamorphosebeginn geöffnet wurde und wo man überhaupt keine Ordnung mehr erkennen kann. Es kommt aber ausnahmsweise auch vor, dass man bis zu einem weiter vorge-

schrittenen Stadium noch mehrere wohl geordnete Windungen findet. Zum oben beschriebenen Zeitpunkt zieht sich das Epithel zusammen, indem sich seine Zellen wieder mehrfach zu schichten beginnen (Abb. 12); auf diesen Vorgang dürfte auch die anfängliche Reduktion der Darmlänge zum Teil zurückzuführen sein. Zudem kann man jetzt schon beobachten, wie einzelne Zellen oder kleinere Zellgruppen ins Darmlumen ausgestossen werden (Abb. 13).

Mit dem Kürzerwerden des im Lauf der Metamorphose all-

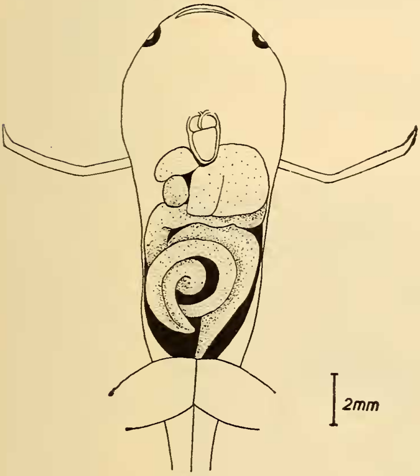


Abb. 6.
Der Magen ist auf die rechte Seite gewandert und der Darm ist auf die adulte Länge reduziert, etwa am 9. Tag der Metamorphose.

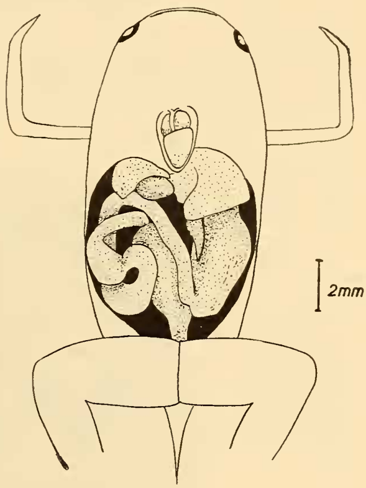


Abb. 7.
Der adulte Darmsitus nach vollendeter Metamorphose.

mählich schwindenden Schwanzes übernehmen nach und nach die Hinterextremitäten die Funktion der Fortbewegung. Sie werden kräftiger, genau so wie die Vorderextremitäten schon Greifbewegungen ausführen können. Während der Darm in wenigen Tagen verkürzt wird, bildet sich der Magen zu einer muskulösen Anschwellung aus und wandert auf die rechte Seite; in der Larvenperiode befand sich ja dieser Darmabschnitt auf der linken Seite. Mehr und mehr bietet nun das histologische Bild des Darmes ein wirres Durcheinander. Etwa am 8. bis 10. Tag der Metamorphose ist überhaupt keine Ordnung mehr im Epithel zu sehen: Ganze Zellklumpen werden ins Lumen ausgestossen, andere Teile wieder

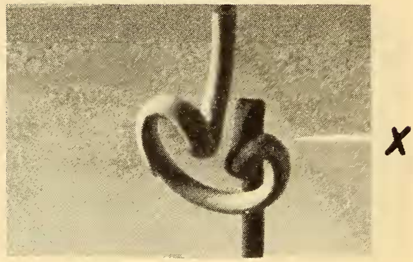


Abb. 8
Modell des Darmes einer Xenopuslarve
Abb. 1 entsprechend.

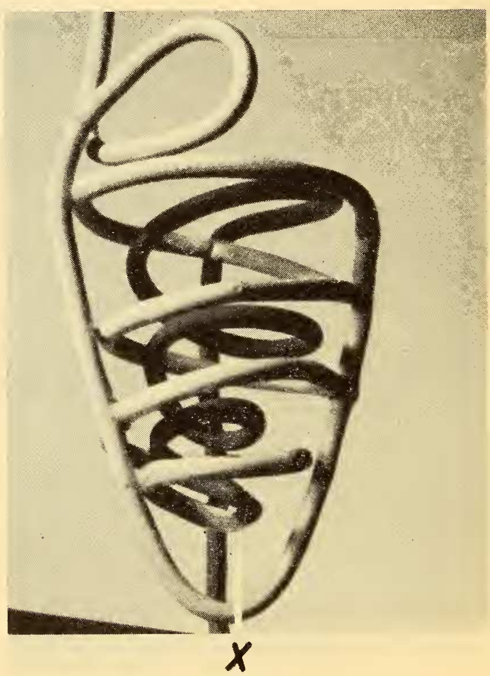


Abb. 9
Modell des Darmes einer Xenopuslarve etwa
Abb. 4 entsprechend.

bleiben im Verband und von diesen geht offenbar die Regeneration des Darmes aus. Es fällt aber schwer, die alten von den neuen Teilen, die schon wieder gebildet wurden, zu unterscheiden, denn Zerfall und Aufbau liegen dicht nebeneinander. Dass während dieser Periode keine Nahrungsaufnahme stattfinden kann, ist verständlich und wird durch Abbildung 14 verdeutlicht. In den darauffolgenden Tagen beginnt sich das Epithel rasch wieder zu ordnen, wobei dieser Regenerationsprozess von zahlreichen Mitosen in allen Darmteilen begleitet wird (Abb. 15).

Unterdessen hat sich der Schwanzstummel mehr und mehr reduziert und ist am 15. Tag nicht mehr zu sehen. Schon vom 12. Tage an entspricht der Darmsitus der Larve etwa demjenigen des adulten Frosches. Der Magen liegt auf der rechten Seite als kräftige, muskulöse Anschwellung; das Duodenum steigt auf und setzt sich im Dünndarm in mehreren Schlingen fort; deutlich ist auch der weite Enddarm zu erkennen (Abb. 7). Das histologische Bild zeigt nun wieder ein wohlgeordnetes, einschichtiges Epithel (Abb. 16). Duodenum und Dünndarm weisen, im Gegensatz zum Magen und Rectum, Längsfalten auf. Im Magen wird das Epithelium bald durch die verzweigt tubulösen Magendrüsen, sowie durch die *Muscularis mucosae* unterlagert. In allen Darmabschnitten nimmt die Submucosa und die Ring- und Längsmuskelschicht der Muscularis an Mächtigkeit zu, bis der anurentypische Adultzustand erreicht ist.

Die Darmentwicklung bei verschiedener Ernährung.

Um die Abhängigkeit der larvalen Darmentwicklung von der in dieser Periode aufgenommenen Nahrung zu untersuchen, wurden die Kaulquappen in zwei Versuchsserien von je ca. 300 Tieren (I und IIa) ausschliesslich mit Brennesselpulver, in einer dritten Serie (IIb) dagegen mit Leberpulver (fein vermörserter, getrockneter Rindsleber) gefüttert. Beide Nährstoffe mussten in feinster Aufschwemmung dargeboten werden, da die Larven von Xenopus ihre Nahrung bekanntlich in Form schwebender Partikelchen durch Filtrieren des Wassers über eine Art Siebvorrichtung aufnehmen. Es stehen ihnen weder Hornkiefer noch -Zähne zum Abnagen von Muskelfasern oder dergl. zur Verfügung, so dass von der Verfütterung rohen Fleisches, wie dies Babák bei anderen Anurenarten tun konnte, abgesehen werden musste.

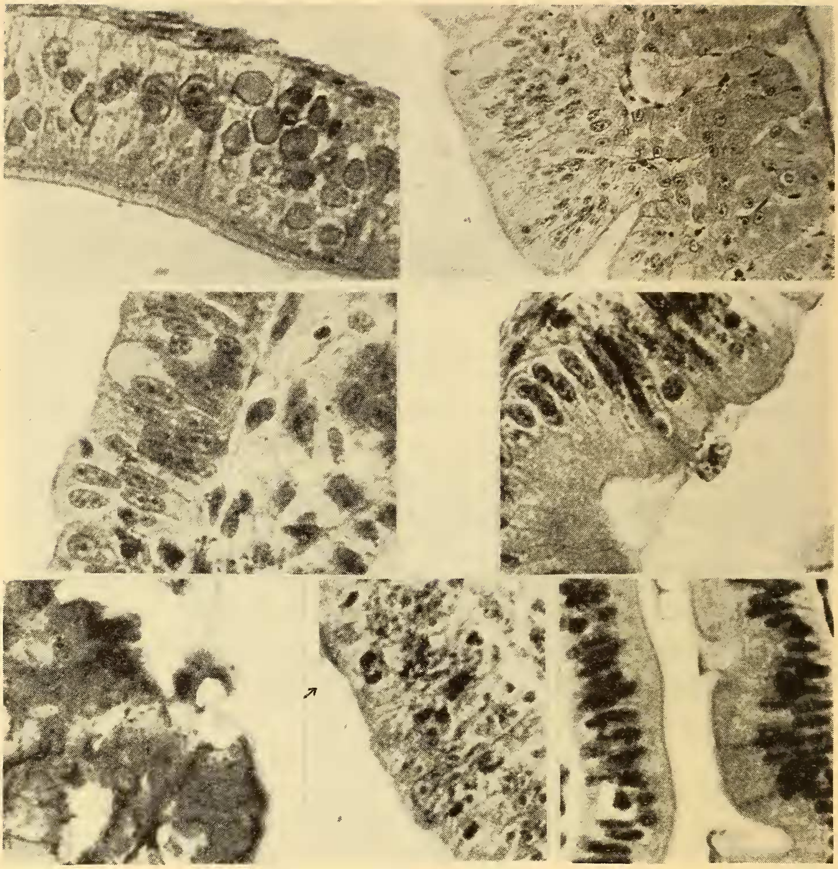
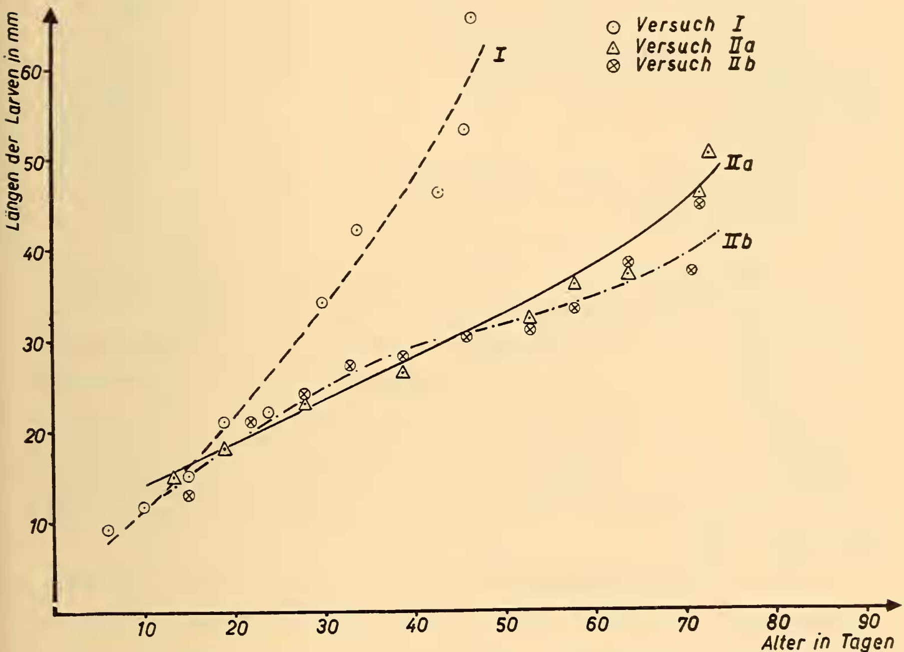


Abb. 10-16.

Abb. 10. Längsschnitt durch den Darm einer Larve, die noch keine Nahrung aufgenommen hat. Durchgehender Kutikularsaum. Fix. Bouin Duboscq; Färb. Hämatoxylin Delafield, Pikroindigocarmin. Vergr. ca. 1200 ×. — Abb. 11. Längsschnitt durch die Magenwand einer kurz vor der Metamorphose stehenden Larve. Magendrüsen sind in Bildung; Kutikularsaum löst sich fransenartig auf. Fix. Bouin Duboscq; Färb. Hämatoxylin Delafield, Pikroindigocarmin. Vergr. ca. 700 ×. — Abb. 12. Längsschnitt in der Duodenumgegend am 5. Tag der Metamorphose. Das Epithel ist wieder mehrschichtig geworden. Fix. Bouin Duboscq; Färb. Hämatoxylin Delafield, Benzopurpurin. Vergr. ca. 1200 ×. — Abb. 13. Längsschnitt im Duodenum am 5. Tag der Metamorphose. Eine Zelle wird in das Lumen ausgestossen. Fix. Bouin Duboscq; Färb. Hämatoxylin Delafield, Benzopurpurin. Vergr. ca. 1200 ×. — Abb. 14. Längsschnitt im Duodenum am 10. Tag der Metamorphose. Völlige Auflösung des Epithels. Fix. Kopsch; Färb. Hämatoxylin Heidenhain; Vergr. ca. 1000 ×. — Abb. 15. Längsschnitt im Dünndarm am 11. Tag der Metamorphose. Zahlreiche Mitosen sind zu beobachten. Fix. Bouin Duboscq; Färb. Hämatoxylin Delafield. Benzopurpurin. Vergr. ca. 1200 ×. — Abb. 16. Längsschnitt im Duodenum nach beendeter Metamorphose. Das Epithel ist wohlgeordnet und der Kutikularsaum neu gebildet. Färb. Hämatoxylin Delafield, Benzopurpurin. Vergr. ca. 1200 ×.

Als prinzipielles Ergebnis dieser Versuche soll die Feststellung vorweggenommen werden, dass die Art des gebotenen Futters keinerlei Einfluss weder auf die morphologische noch auf die histologische Differenzierung des Darmtraktus hatte, sondern lediglich auf die Darmlängen der Versuchstiere. Auf der graphischen Darstellung A ist das Wachstum der Larven bis zum Metamorphosebeginn aufgetragen. Dabei zeigt sich zunächst der auf-



A. Gesamtlängen der Larven (Kopf-Schwanzspitze) bis zum Beginn der Metamorphose.

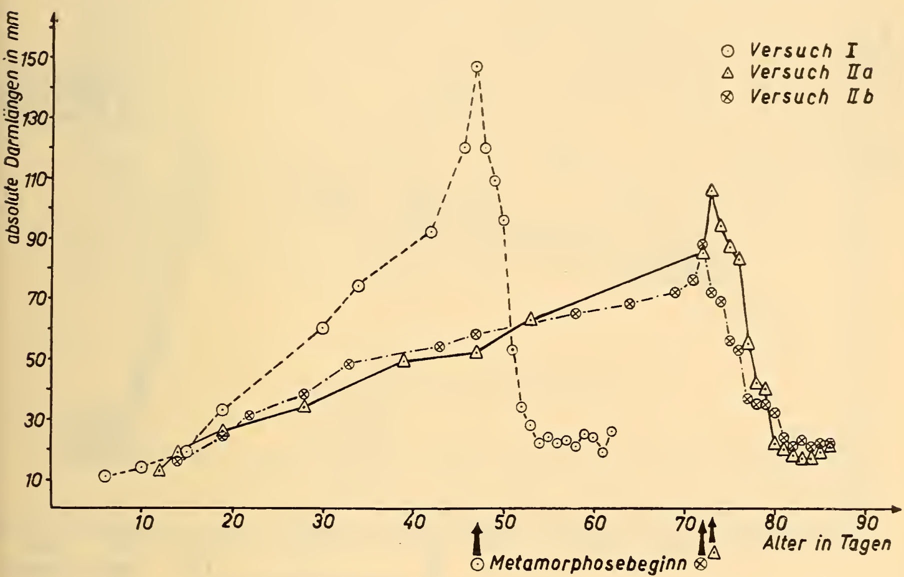
fallende Umstand, dass sich die Versuchstiere der Serie I (Brennnessel-Futter) beinahe doppelt so schnell entwickelten und bedeutend grösser wurden als diejenigen der Serie IIa (Brennessel-Futter) und IIb (Leber-Futter). Die äusseren Zuchtbedingungen wie Temperatur, Belichtung, Wasserwechsel, Fütterungsintensität waren in allen Serien dieselben. Einzig das verwendete Zuchtwasser war verschiedener Provenienz, indem es bei I aus einer Wasserleitung im nördlichen Schwarzwald (mittleres Murgtal), bei IIa und b aus einer Basler Quelle stammte. Eine chemische Analyse der beiden Wasserarten ergab folgenden Vergleich:

		Schwarzwald Wasser	Basler Wasser
Reaktion (p_H)		6,4	7,3
Trockenrückstand (mg im Liter)		57	588
Oxydierbarkeit	„ „	6,4	5,0
Freies Ammoniak	„ „	0,05	0
Nitrit-Ion	„ „ ca.	0,01	0,01
Nitrat-Ion	„ „	6	44
Chlor-Ion	„ „	3,0	2,0
Sulfat-Ion	„ „	8,6	98,4
Alkalität, in franz. Härtegraden		1,5	25,0
Gebundene CO_2 mg im Liter		6,6	110,0
Freie	„ „ „	—	23,0
Aggressive	„ „ „	—	0
Eisen	„ „	0,04	0,07
Gesamt-Härte in franz. Härtegraden		1,5	38,0
Bleibende Härte	„	0	13,0

Es fällt vor allem die relative Kalkarmut des aus Urgestein stammenden Schwarzwaldwassers auf, und wir müssen es dahingestellt sein lassen, ob sich dadurch die Entwicklungsbedingungen für *Xenopus* so viel günstiger gestalteten. Diesem Unterschied gegenüber ist derjenige, der sich zwischen den Serien IIa und b beobachten lässt, bedeutend geringer. Er drückt sich aus in einer etwas rascheren Entwicklung der Leberfresser und darin, dass Brennesselfresser etwas grösser werden als die mit Leber gefütterten Larven.

Auf der Darstellung B sind die absoluten Darmlängen graphisch aufgetragen. Auch hier zeigt sich die bereits erwähnte Differenz in der Entwicklungsdauer zwischen den Serien I und II, wobei aber interessanterweise die Metamorphosekrise dieselbe Zeit beansprucht. Auch sonst ergeben alle Kurven ein ähnliches Bild, d. h. einen sich steigernden Anstieg zum Maximum, wobei nun allerdings die Leberfresser hinter den Brennessel-Larven deutlich zurückbleiben. Beim Einsetzen der Metamorphose erfolgt überall eine Reduktion der Darmlänge innerhalb weniger Tage auf dasselbe Niveau. In der Zeit vom 4. bis auf den 8. oder 9. Tag erreicht der Darm ein minimales Längenmass, das man etwa als „adulttypisch“ bezeichnen könnte. Selbstverständlich ist er später in die normalen Wachstumsvorgänge mit einbezogen. Wie bereits früher erwähnt, ist zu berücksichtigen, dass die Darm-Reduktion in den ersten Tagen fast lediglich auf die Entleerung des gesamten Darm-

inhaltes, die eine Volumen-Verringerung des Organes zur Folge hat, zurückzuführen ist. (Lässt man Versuchstiere in der Mitte der Larvenperiode einige Tage hungern, so dass ihr Darm leer wird, dann beobachtet man eine ähnliche, künstlich provozierte Darm-Reduktion.) Später macht sich zusätzlich der Ab- und Umbau des Darmes geltend. Bemerkenswert ist noch die Beobachtung, dass die Leberfresser mit einer geringeren Futter-

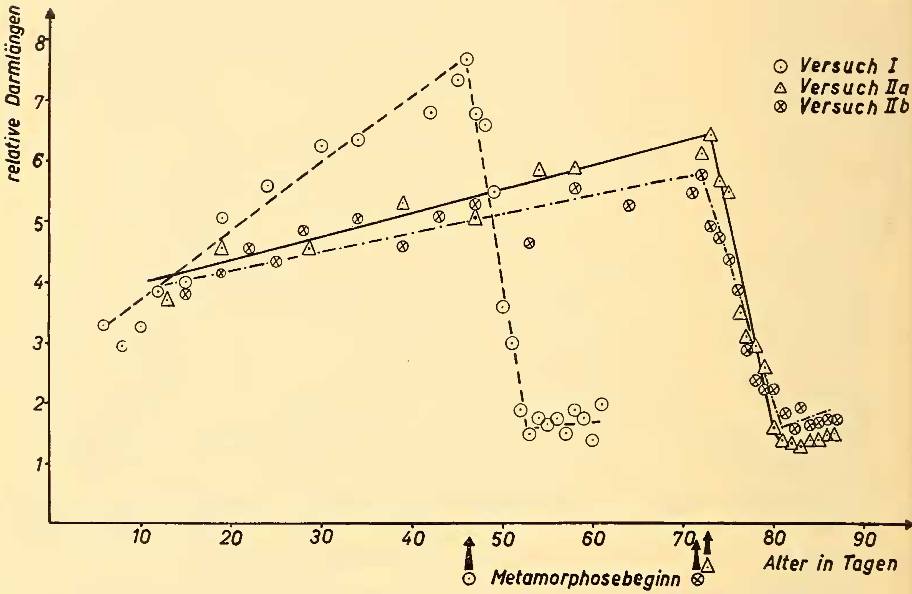


B. Absolute Darmlängen der Larven bis nach vollendeter Metamorphose

menge satt wurden, indem die je ca. 300 Tiere der Serien I und IIa total 4,5 gr Brennesselpulver, die 300 der Serie IIb dagegen nur 0,8 bis 1,0 gr Leberpulver aufgenommen haben.

In Darstellung C ist die relative Darmlänge eingetragen. Darunter verstehen wir den Quotienten aus der absoluten Darmlänge und der Körperlänge. Da bei der Metamorphose der Schwanz abgebaut wird, kann er nicht in die Messungen miteinbezogen werden. Wir bestimmen deshalb die Körperlänge aus der Entfernung von der Schnauze bis zu dem Punkt, wo die Mittellinien der Hinterbeine die Medianebene des Körpers schneiden. Wie man sieht, nimmt die relative Darmlänge im Verlauf der larvalen Entwicklung im gleichen Masse wie die Körperlänge zu und fällt

dann im Verlauf der Metamorphose wieder schroff ab. Bis zum Ende der Metamorphose nimmt sie dann nochmals etwas zu, da die Körperlänge bis zum Ende der Metamorphose noch weiter abnimmt und der Darm sich wieder etwas streckt (vgl. Darstellung B). Ein Vergleich zwischen IIa und b ergibt nun deutlich, dass die relative Darmlänge der Leberfresser weit unter derjenigen der Pflanzenfresser bleibt. Weitere Messungen ergaben, dass dies auch



C. Relative Darmlängen der Larven bis nach vollendeter Metamorphose.

für den *Darmdurchmesser* der Fall ist, indem erwachsene Larven bei den Pflanzenfressern Darmdurchmesser von 0,7—0,8 mm, bei den Fleischfressern dagegen von nur 0,5—0,6 mm aufweisen. Auch hierin zeigt sich, dass die Pflanzenfresser eine grössere Darminnenfläche ausbilden.

Zusammenfassung.

Auf Grund eines umfangreichen, morphologisch, histologisch und physiologisch ausgewerteten Materials von *Xenopus laevis* wird zunächst die Ausbildung der larvalen Darmspirale vom

frischgeschlüpften Larvenstadium an bis zur Metamorphose geschildert. Sodann wird die im Lauf der Metamorphose vor sich gehende Darmreduktion, die von der Ausbildung der adulttypischen Darmabschnitte gefolgt wird, beschrieben. Auch alle wesentlichen histologischen Vorgänge, welche die larvalen und postlarvalen Veränderungen des Darmtraktus begleiten, sind berücksichtigt.

In drei Versuchsserien von je etwa 300 Tieren ist sodann der Einfluss der Futterqualität auf die Entwicklung der Larven und speziell ihres Darmes untersucht worden. Die Fütterung mit einer Aufschwemmung feinsten Leberpulvers erwies sich als nahrhafter, als diejenige mit Brennesselpulver, d. h. es wurden merklich geringere Quantitäten benötigt, um eine normale Entwicklung zu garantieren. Dagegen erreichten bei Brennessel-Futter die Versuchstiere eine bedeutendere Endgrösse, und ihr Darm war länger und weitlumiger als derjenige der Leberfresser.

LITERATURVERZEICHNIS

Babák, E. 1906. *Experimentelle Untersuchungen über die Variabilität der Verdauungsröhre.* Arch. Entw.-Mech. Org. 21: 611-702.

Kremer, J. 1927. *Die Metamorphose und ihre Bedeutung für die Zellforschung. II. Amphibia.* Zeitschr. mikrosk. anat. Forsch. 9: 99-233.

Gasche, P. 1942. *Hormonwirkung bei niederen Tieren.* Ciba Zeitschrift, Sondernummer 18. Juni. 139-142.

— 1943. *Die Zucht von Xenopus laevis und ihre Bedeutung für die biologische Forschung.* Rev. Suisse Zool. 50: 262-269.

— *Beginn und Verlauf der Metamorphose bei Xenopus laevis* Daud. Helv. Physiol. Pharm. Acta 2: 607-626.

Ochsé, W. 1948. *Die Zucht des südafrikanischen Krallenfrosches Xenopus laevis* Daud. Gynaecologia 126: 57-74.